日本標準商品分類番号 87744
製造販売認証番号 第219AFAMX00128000号

サーファクタント蛋白Dキット

ＳＰ-Ｄキット「ヤマサ」ＥＩＡⅡ

【全般的な注意】

1) 本製品は、体外診断用医薬品であり、それ以外の目的に使用しないで下さい。
2) 測定結果に基づく臨床診断は、臨床症状や他の検査結果等と合わせ担当医師が総合的に判断して下さい。
3) 添付文書に記載された使用方法に従って使用して下さい。記載された使用方法及び使用目的以外での使用はしないで下さい。
4) 使用する機器の添付文書及び取扱説明書をよく読んでから使用して下さい。

【形状・構造等（キットの構成）】

① 酵素標識抗体 (西洋ワサビペルオキシダーゼ標識マウス抗ヒトSP-Dモノクローナル抗体(6B2))	1バイアル(0.15mL)
② 抗体固相プレート (マウス抗ヒトSP-Dモノクローナル抗体(7C6))	1枚
③ 発色液A (3,3',5,5'-テトラメチルベンジジン)	1バイアル(11mL)
④ 発色液B (過酸化水素)	1バイアル(0.5mL)
⑤ 反応停止液	1バイアル(11mL)
⑥ SP-D標準液1 (1.56 ng/mL)	1バイアル(0.5mL)
⑦ SP-D標準液2 (3.13 ng/mL)	1バイアル(0.5mL)
⑧ SP-D標準液3 (6.25 ng/mL)	1バイアル(0.5mL)
⑨ SP-D標準液4 (12.5 ng/mL)	1バイアル(0.5mL)
⑩ SP-D標準液5 (25 ng/mL)	1バイアル(0.5mL)
⑪ SP-D標準液6 (50 ng/mL)	1バイアル(0.5mL)
⑫ SP-D標準液7 (100 ng/mL)	1バイアル(0.5mL)
⑬ 希釈液	1バイアル(25mL)
⑭ 洗浄原液	2バイアル(50mL)

【使用目的】

血清中のサーファクタントプロテインＤ（ＳＰ－Ｄ）の測定

【測定原理】

本キットは、マイクロプレート固相法を用いた酵素免疫測定法(EIA)により、血清中SP-Dを測定するキットである。マウス抗ヒトSP-Dモノクローナル抗体を固相したマイクロプレートに検体を加え反応させる。ついで、固相抗体と認識部位の異なる西洋ワサビペルオキシダーゼ標識マウス抗ヒトSP-Dモノクローナル抗体と反応させる。この課程で、固相抗体-抗原(SP-D)-標識抗体複合体が形成される。その後、酵素-基質反応(発色反応)による450nmの吸光度から、検体中のSP-D量を定量する。

【操作上の注意】

１．測定試料の性質、採取法

1) 検体は血清を使用して下さい。
2) すぐに測定しない場合は測定まで-20℃以下で保存して下さい。
3) 検体を室温(18～28°C)に戻してから、測定を実施して下さい。
4) 凍結融解を繰り返した検体は使用しないで下さい。
5) 溶血した検体は使用しないで下さい。

２．妨害物質

下記の成分は本キットの測定値に影響を与えません。

血清アルブミン	30 g/dL以下
ヘモグロビン	2.5 g/dL以下
ビリルビン(遊離型)	50 mg/dL以下
ビリルビン(抱合型)	220 mg/dL以下
乳ビ	7000 ホルマジン濁度以下
リューマチ因子	1500 IU/mL以下

【用法・用量(操作方法)】

１．試薬の調製

試薬は室温(18～28°C)に戻してから使用する。

1) 洗浄液
洗浄原液50mLに精製水を加え、全量500mLにした後、使用する。
調製後は、2～8°C保存で28日以内に使用する。
2) 希釈液
希釈液25mLに精製水75mLを加え、希釈後使用する。
調製後は、2～8°C保存で28日以内に使用する。
3) 酵素標識抗体
調製済み希釈液11mLに酵素標識抗体原液100μLを加え、希釈後使用する。調製後は、2～8°C保存で28日以内に使用する。
4) 発色液(用時調製)
使用時に必要量を下記の例をもとに発色液A:発色液Bを220:1の割合で混合した後、使用する。
(例) 発色液A 11mLに対して、発色液B 50μLを加えた後、使用する。
5) その他の試薬
そのまま使用する。

２．必要な器具、装置

マイクロピペットまたはマルチチャンネルピペット(10,100,250μL)、ボルテックスミキサー、メスシリンダーまたはメスピペット、プラスチック製試験管(ガラス製の試験管は使用しない)、インキュベーター、マイクロプレートリーダー、アスピレーターまたはプレートウォッシャー、紙タオルなど

３．検体の調製

1) 検体は血清を使用する。
2) 検体は血清を調製済み希釈液で11倍希釈したものを使用する。
3) 測定範囲を超えた検体は、調製済み希釈液で適宜希釈して測定する。

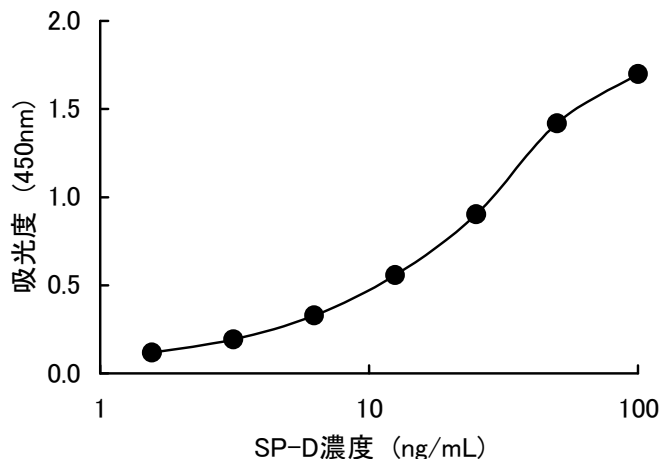
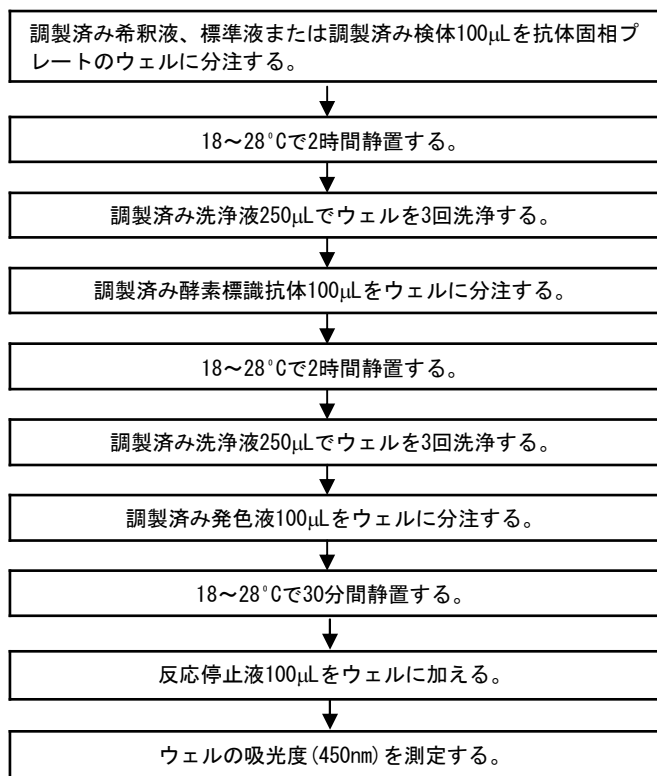
４．操作方法

測定は、原則として2重測定で行う。

1) 調製済み希釈液(SP-D濃度0ng/mL)、SP-D標準液または調製済み検体100μLを抗体固相プレートの所定のウェルに分注する。
2) 18～28°Cで2時間静置する。
3) ウェルの内容物をアスピレーター等で吸引除去後、調製済み洗浄液250μLを抗体固相プレートの所定のウェルに分注する。
この操作をさらに2回行う。
4) 抗体固相プレートを紙タオル上で逆さにして軽くたたき、残った液を除く(プレートは乾燥させないように注意する)。
5) 調製済み酵素標識抗体100μLを抗体固相プレートの所定のウェルに分注する。
6) 18～28°Cで2時間静置する。
7) 3)～4)と同様の操作を行う。
8) 調製済み発色液100μLを抗体固相プレートの所定のウェルに分注する。
9) 18～28°Cで30分間静置する。
10) 反応停止液100μLを抗体固相プレートの所定のウェルに分注する。
11) 全てのウェルの450nmの吸光度を測定する。

５．濃度の算出

1) 片対数グラフ用紙を用意し、横軸に各標準液の濃度を、縦軸には各標準液の吸光度の平均値をプロットし、標準曲線を作成する。
2) 各検体の吸光度の平均値を用いて、標準曲線から検体のSP-D濃度(ng/mL)を求める。求めた濃度と希釈倍率から検体中のSP-D濃度を算出する。

標準曲線例

測定法の概略図

【測定結果の判定法】

カットオフ値　110ng/mL

これら基準値は各施設毎に設定して下さい。

【性能】

１．性能

1) 感度

調製済み希釈液(SP-D濃度0ng/mL) とSP-D濃度100ng/mLの標準液の吸光度の差は1.2以上である。

2) 正確性

管理検体1 (SP-D濃度 9.6ng/mL)

管理検体1のSP-D濃度を測定するとき、その値は表示値の±20%以内である。

管理検体2 (SP-D濃度 17.0ng/mL)

管理検体2のSP-D濃度を測定するとき、その値は表示値の±20%以内である。

管理検体3 (SP-D濃度 29.1ng/mL)

管理検体3のSP-D濃度を測定するとき、その値は表示値の±20%以内である。

3) 同時再現性

管理検体1 (SP-D濃度 9.6ng/mL)

管理検体1のSP-D濃度を同時に5回測定するとき、その再現性(変動係数CV%)は15%以下である。

管理検体2 (SP-D濃度 17.0ng/mL)

管理検体2のSP-D濃度を同時に5回測定するとき、その再現性(変動係数CV%)は15%以下である。

管理検体3 (SP-D濃度 29.1ng/mL)

管理検体3のSP-D濃度を同時に5回測定するとき、その再現性(変動係数CV%)は15%以下である。

4) 測定範囲

1.56～100ng/mL

２．　相関性試験成績

本キットと既存キット(SP-Dキット「ヤマサ」EIA 承認番号21000AMZ00719000)測定値には、以下のように良好な相関性が認められた。

SP-D濃度(本品) = 1.02 ×(既存品)+1.80

(r= 0.989、n=117)

３．較正用基準物質

自社精製リコンビナントサーファクタント蛋白Ｄ（ＳＰ－Ｄ）

【使用上または取扱上の注意】

１．取扱上の注意

1) 検体は、HIV、HBV、HCV等の感染性のものを含んでいる場合がありますので、感染性のあるものとして取扱には十分注意して下さい。

2) 本キットの反応停止液は、0.5M硫酸のため、皮膚との接触を避ける等取扱に注意して下さい。

3) 試薬が誤って目や口に入った場合には、水で十分洗い流す等の応急処置を行い、必要があれば医師の手当て等を受けて下さい。

２．使用上の注意**

1) 調製した試薬は、定められた方法で保存し、定められた期間内に使用して下さい。

2) 異なるロットの構成試薬を組み合わせて使用しないで下さい。

3) 使用期限を過ぎたキットは、使用しないで下さい。

4) 試薬の注ぎ足しは行わないで下さい。

３．廃棄上の注意

1) 使用後の容器は、廃棄物に関する規定に従って医療廃棄物または産業廃棄物等区別して処理して下さい。

2) 検体等に接触した器具、試薬及び試薬容器等は、感染の危険性があるものとして、オートクレーブ等で滅菌処理するか、1%次亜塩素酸などの消毒薬に浸して処理して下さい。

【貯蔵方法・有効期間】* **

１．貯蔵方法:2～8°Cで保存

２．有効期間:製造日から14ヶ月(使用期限は外箱に表示)

【包装単位】

商品ｺｰﾄﾞ	品名	包装
54772-3	SP-Dｷｯﾄ｢ﾔﾏｻ｣EIAⅡ	96ﾃｽﾄ用

【主要文献】

1) Persson,A 他　Biochemistry 27:8576,1988

2) 永江 尚人 他　医学と薬学 36:803,1996

3) 本田 泰人 他　医学と薬学 36:809,1996

4) 田中 誠仁 他　医学と薬学 59,439,2008

【問い合わせ先】**

協和メデックス株式会社　学術担当

〒104-6004 東京都中央区晴海　1-8-10

ダイヤルイン　03-6219-7608

【製造販売業者の名称及び住所】* **

製造販売　ヤマサ醤油株式会社

千葉県銚子市新生町2-10-1

TEL 0479-22-0095

販売　協和メデックス株式会社

東京都中央区